

Die rekombinante DNA-Technologie 10

Rekombinant hergestellte Proteine – nützliche Chimären

Barbara C. Biedermann Eine menschliche cDNA-Bibliothek besteht also aus einem gut sortierten und katalogisierten Bakterienvolk, dessen «Einzel-Bürger» jeweils ein bestimmtes menschliches Gen enthalten und dieses mit ihrem eigenen Erbgut mitvermehren. Die Identifizierung der einzelnen menschlichen Gene in den einzelnen Bakterienkolonien erfolgt wiederum nach dem Prinzip der DNA-Hybridisierung: Das Abklatschpräparat einer gemischten Bakterien-Agarplatte wird – nach Bakterienlyse und Proteinverdauung – mit der markierten DNA-Probe inkubiert, und diese identifiziert präzise jene Kolonien, die das gesuchte menschliche Gen enthalten. Die so klonierten, menschlichen Gene können im Bakterium – entsprechend dem genetischen Code – in mRNA und Protein abgeschrieben werden, sofern das Plasmid eine entsprechende, vom Bakterium ablesbare Promo-

ter-Region dem rekombinant eingefügten Gen vorgeschaltet hat. Das Bakterium vermehrt also nicht nur die im Plasmid enthaltene, genetische Information des menschlichen Gens, sondern kann diese auch in Protein übersetzen. Gewisse menschliche Proteine sind, wenn sie in Bakterien produziert werden, voll funktionsfähig. Andere sind auf bestimmte Modifikationen (z.B. Glykosylierung) angewiesen, um funktionstüchtig zu sein. Derartige Modifikationen können beispielsweise nur in eukaryoten Zellen stattfinden. In diesem Fall ist es notwendig, das Plasmid mit dem menschlichen Gen in eine solche Zelle einzubringen, um die aktive Form des Proteins zu erhalten. Übrigens – die am einfachsten zugängliche Quelle einer menschlichen Proteinsynthesemaschinerie ist das Retikulozytenlysate, welches ebenfalls in der molekularbiologischen Forschung für diesen Zweck verwendet wird. Retikulozyten enthalten noch Ribosomenreste, die sie erst bei ihrer endgültigen Reifung zu Erythrozyten ganz verlieren. Diese Ribosomenreste werden aus den lysierten, aufgebrochenen Retikulozyten freigesetzt und können anhand der mRNA-Vorlagen Protein synthetisieren. Die In-vitro-Expression von menschlichen Proteinen wird bei der biotechnologischen Herstellung rekombinanter Medikamente (wie z.B. Interferon, Insulin, Erythropoietin etc.) in industriellem Massstab angewendet.

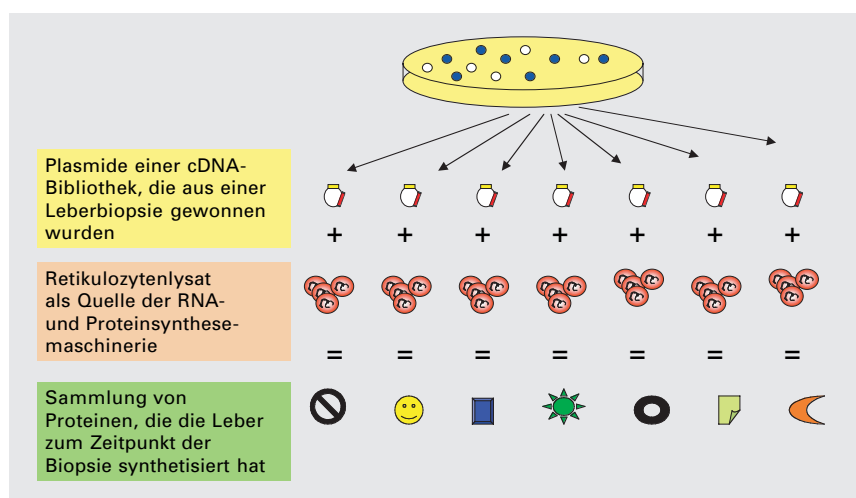


Abbildung 1. Expression rekombinanter Proteine in verschiedenen Expressionssystemen.

Korrespondenz:
 PD Dr. med. Barbara C. Biedermann
 Medizinische Universitätsklinik
 Kantonsspital
 CH-4101 Bruderholz
barbara.biedermann@unibas.ch